



TITLE:

Transcriptional factor Pdx1 is involved in age-related GIP hypersecretion in mice(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ikeguchi, Eri

CITATION:

Ikeguchi, Eri. Transcriptional factor Pdx1 is involved in age-related GIP hypersecretion in mice. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22313>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	池 口 絵 理
論文題目	Transcriptional factor Pdx1 is involved in age-related GIP hypersecretion in mice (転写因子 Pdx1 はマウスの加齢に関連した GIP 過分泌に関与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】 加齢に伴う脂肪蓄積は、高齢化社会における問題である。glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) は、糖や脂質の摂取により腸管内分泌 K 細胞から分泌されるインクレチンである。GIP はインスリン分泌亢進を介した作用と脂肪組織に発現する GIP 受容体への作用を介して高脂肪食摂取時の肥満とインスリン抵抗性形成に関与する。GIP 受容体欠損マウスでは、加齢に伴う脂肪蓄積やインスリン抵抗性が軽減することが報告されており、GIP は加齢に伴う脂肪蓄積やインスリン抵抗性形成にも関与することが示唆されるが、GIP 分泌や K 細胞の経年変化に関して詳細な検討はなされていない。本研究では、GIP 遺伝子に GFP 遺伝子を挿入した K 細胞可視化 (GIP-GFP knock-in) マウスを用いて、GIP 分泌や K 細胞の経年変化について検討した。</p> <p>【方法】 3-4 か月齢 (若齢) と 12 か月齢 (加齢) の GIP-GFP knock-in ヘテロマウスを用いて、自由摂食下採血、経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT)・インスリン負荷試験 (ITT)、CT・実測による脂肪量解析を行った。免疫組織染色・フローサイトメトリーにて、GFP 陽性細胞 (K 細胞) 数を評価した。回収 K 細胞を用いて GIP ならびに他の遺伝子発現を評価した。目的遺伝子と K 細胞数・GIP 遺伝子発現との関係を明らかにするため、腸管特異的に遺伝子の導入を可能にした intestine-specific gene transfer (iGT) を GIP-GFP knock-in ヘテロマウスに施行し、siRNA による目的遺伝子発現抑制後の K 細胞数・GIP 遺伝子発現量を検討した。</p> <p>【結果】 加齢マウスでは若齢マウスと比較し約 10 g の体重増加を認めた。加齢マウスで内臓脂肪・皮下脂肪重量が増加していた。ITT にて加齢マウスでは血糖変化率が低かった。すなわち、加齢マウスは脂肪蓄積・インスリン抵抗性を呈した。自由摂食下採血・OGTT にて血糖値は両群間で差を認めなかったが、加齢マウスの GIP・インスリン分泌は高値であった。GIP 分泌亢進の原因検索のため、抗 GFP 抗体を用いた免疫組織染色にて K 細胞数を評価した。加齢マウスでは 1 絨毛あたりの K 細胞数が多かった。フローサイトメトリーよる解析でも同様に、加齢マウスでは腸管上皮細胞 10 万個あたりの K 細胞数が多かった。したがって、加齢マウス腸管での K 細胞数の増加が GIP 分泌亢進の一因と考えられた。回収 K 細胞を用いた検討では、加齢マウス K 細胞内の GIP mRNA が増加していた。GIP 産生に影響を及ぼしうる転写因子の遺伝子発現量を評価したところ、pancreatic duodenal homeobox 1 (Pdx1) mRNA が、加齢マウスの K 細胞内で増加していた。抗 Pdx1 抗体を用いた免疫染色を行うと、加齢マウスでは Pdx1 陽性細胞の染色性が上昇していた。Pdx1 と K 細胞数・GIP 遺伝子発現との関係を明らかにするため、Pdx1 siRNA を用いて iGT を施行した。Pdx1 ノックダウン小腸では、Pdx1 発現量がコントロール群と比較して約 70%減少し、抗 Pdx1 抗体による染色性も減少した。Pdx1 ノックダウン小腸では、K 細胞数と GIP</p>			

mRNA 発現・GIP 含有量の減少を認めた。また、Pdx1 ノックダウン小腸を有するマウスを用いて OGTT を施行すると、GIP 分泌が低下していた。

【結語】 転写因子 Pdx1 は、小腸内の K 細胞数と K 細胞内の GIP 発現を増加させることにより、加齢に伴う GIP 分泌亢進に関与する可能性が示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

加齢に伴う脂肪蓄積は高齢化社会における問題である。glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) は腸管内分泌 K 細胞から分泌され、高脂肪食誘導性肥満に関与する。一方で、加齢に伴う脂肪蓄積やインスリン抵抗性への GIP の関与については不明であり、GIP 分泌や K 細胞の経年変化に関する詳細な報告もないため、K 細胞可視化 (GIP-GFP knock-in) マウスを用いて検討した。

加齢マウス (12 か月齢) は若齢マウス (3-4 か月齢) と比較し、脂肪蓄積、インスリン抵抗性、GIP 分泌亢進を呈した。加齢マウスではK細胞数、K細胞内のGIPおよびpancreatic duodenal homeobox 1 (Pdx1) 発現が増加していた。intestine-specific gene transfer (iGT) の手法で腸管特異的かつ後天的に Pdx1 発現をノックダウンすると、GIP 発現・GIP 含有量が減少した。Pdx1 ノックダウン小腸を有するマウスではブドウ糖負荷後の GIP 分泌が低下した。以上より、Pdx1 は K 細胞数と K 細胞内 GIP 発現を増加させ、加齢に伴う GIP 分泌亢進に関与する可能性が示唆された。

以上の研究は、通常食摂取下の加齢に伴う脂肪蓄積における GIP の役割の解明に貢献し、代謝学および糖尿病学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和2年1月16日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。